

AYVALIK VE MEMECİK ZEYTİN ÇEŞİTLERİNİN YAPRAĞI VE MEYVELERİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Didar Sevim¹ Özlem Tuncay²

¹T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Bornova-İZMİR

²Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bornova-İZMİR

Geliş tarihi / Received: 03.04.2012

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 05.05.2012

Kabul tarihi / Accepted: 10.05.2012

Özet

Bu çalışmada 2008/09 ve 2009/10 hasat yıllarında Bornova Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü bahçesinden toplanan Ayvalık ve Memecik zeytin yaprağı ve zeytin meyvelerinin toplam fenolik madde miktarı, DPPH• ve ABTS•⁺ radikal süpürücü aktiviteleri incelenmiştir. İstatistiksel olarak çeşitlere göre zeytin yaprağının DPPH• ve ABTS•⁺ radikal süpürücü aktiviteleri, zeytin meyvesinin toplam fenolik madde miktarı, DPPH• ve ABTS•⁺ radikal süpürücü aktiviteleri önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Ayvalık zeytin yaprağının toplam fenolik madde miktarlarının 2008/09 ve 2009/10 yıllarında sırası ile 237.73 ve 235.64 mgCAE/100 g, Memecik zeytin yaprağının 230.64 ve 233.73 mgCAE/100 g, Ayvalık zeytin meyvesinin 279.39 ve 198.87 mgCAE/100 g ve Memecik zeytin meyvesinin 349.72 ve 253.40 mgCAE/100 g olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak her iki hasat yılında da toplam fenolik madde miktarları açısından Ayvalık ve Memecik zeytin çeşitlerinin yaprakları arasında önemli bir fark olmadığı, fakat Memecik zeytin meyvesinin toplam fenolik madde miktarının Ayvalık zeytin meyvesine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: DPPH, ABTS, zeytin, zeytin yaprağı, antioksidan aktivite

TOTAL PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF "AYVALIK" AND "MEMECİK" OLIVE LEAVES AND OLIVE FRUITS

Abstract

In this study, the total phenolic content, DPPH• and ABTS•⁺ radical scavenging activities of olive leaves and fruits of "Ayvalık" and "Memecik" cultivars which were harvested from the Directorate of Bornova Olive Research Station during 2008/09 and 2009/10 harvest years were investigated. According to the cultivars, DPPH• and ABTS•⁺ radical scavenging activities of olive leaves and also the olive fruits total phenolic content, DPPH• and ABTS•⁺ radical scavenging activities were found statistically significant ($P<0.001$). The total phenolic content of "Ayvalık" olive leaves 237.73 and 235.64 mgCAE/100 g, "Memecik" olive leaves 230.64 and 233.73 mgCAE/100 g, "Ayvalık" olive fruits 279.39 and 198.87 mgCAE/100 g, "Memecik" olive fruits 349.72 and 253.40 mgCAE/100 g were determined, in 2008/09 and 2009/10 years, respectively. As a conclusion, statistically significant differences were not determined between the total phenolic contents of "Ayvalık" and "Memecik" olive leaves. On the other hand, total phenolic content of "Memecik" olive fruits were found significantly higher than "Ayvalık" olive fruits, in both harvest year.

Keywords: DPPH, ABTS, olive, olive leaves, antioxidant activity

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ dcengeler@yahoo.com,

☎ (+90) 232 462 7073

☎ (+90) 232 435 0671

GİRİŞ

Türkiye zeytin kültürü ve yetiştiriciliğinde dünyanın sayılı ülkeleri arasında olup dünya zeytin ağaç varlığında ve dane zeytin üretiminde İspanya, İtalya ve Yunanistan'dan sonra dördüncü sırada yer almaktadır (1).

Türkiye'de Kuzey Ege'de Ayvalık, Güney Ege'de Memecik ekonomik öneme sahip yağlık zeytin çeşitleridir. Ayvalık zeytin çeşidinin, orijini Balıkesir ilinin Edremit ilçesidir. Meyve eti oranı % 85,26, yağ oranı % 24,72 ve nem oranı % 55,74 olup orta derecede periyodisite göstermektedir. Memecik zeytin çeşidinin orijini Muğla'dır. Meyve boyu iri ve soğuğa duyarlıdır. Meyve eti oranı % 88,28, yağ oranı % 24,50 ve nem oranı % 52,60'dır. Kuvvetli periyodisite göstermektedir (2).

Zeytin yaprakları zeytin hasadı sırasında elde edilen önemli bir yan üründür. Zeytin ağacının yaprakları ince uzun formda olup bir yaprağın ömrü 2-3 yıl arasında değişmektedir. Üst yüzeyleri yeşil, alt yüzeyleri ise gri-beyaz renkte olan yapraklar bir süre sonunda döküldüklerinden, yerine yeni yapraklar gelmekte ve bu yenilenme genellikle bahar aylarında olmaktadır (3). Genellikle zeytin yaprağı hasat zamanında toplanan zeytinin toplam ağırlığının % 10'u kadar olmaktadır. Ayrıca zeytin ağaçlarının budanması sırasında da elde edilmektedir (4). Zeytin yaprakları herhangi bir üretim veya satın alma maliyeti olmayan bir hammadDEDİR. Zeytin ağacının, meyvesinden sonra besin değeri en zengin kısmı olan zeytin yaprağı, antioksidan madde özelliği gösteren birçok fenolik bileşiği özellikle de oleuropeini bünyesinde bulundurmaktadır. Zeytin yaprağı ekstraktlarında bulunan oleuropein ve hidrokstitirosolün antioksidan aktivitesi de oldukça yüksektir (5, 6). Son zamanlarda yapılan araştırmalar ile zeytin yaprağı ekstraktının zeytinyağını oksidasyona karşı koruduğu saptanmış, 1 kg zeytin yaprağı ekstraktı ile zenginleştirilmiş 50-320 l rafine zeytinyağının stabilitesinin ham zeytinyağı ile aynı olduğu rapor edilmiştir (7).

Ekim ayında toplanan yapraklardaki oleuropein miktarının Mart ayında toplanan yapraklara göre daha az miktarda olduğu, yeşil ve genç sürgünlerin düşük üretim hızında olmasından dolayı bahar mevsimine göre daha az miktarda oleuropein içerdiği, ayrıca oleuropein miktarını renk/yağ faktörünün etkilediği ve koyu yeşil yapraklarda daha yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir.

Yeşilimsi sarı ve tamamen sarı (dökülme dönemindeki yapraklarda) yaprakların en düşük miktarda oleuropein içerdiği yapılan çalışmalarda saptanmıştır (8). Fabbri et al. (9) yaptıkları çalışmada da zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin yaprak yaşı, dal tipi (zayıf, orta, güçlü) ve çeşide göre değiştiğini, Mayıs, Temmuz ve Eylül aylarında toplanan yapraklardaki bileşikler arasındaki en önemli farklılıkların çeşide ve toplama zamanına göre değiştiğini belirlemişlerdir.

Zeytinler yüksek oranda; taze meyve eti ağırlığının % 1-3 arasında, fenolik bileşik içermektedir. Silva et al. (10) oleuropeinin işlenmemiş zeytin meyvesinde en fazla bulunurken, hidrokstitirosolün işlenmiş zeytinde ve zeytinyağında en fazla bulunduğunu ifade etmektedir. Oleuropein miktarı olgunlaşmamış zeytinde kuru ağırlık olarak % 14'e kadar ulaşmakta, fakat olgunlaşma ile bu oran azalmaktadır. Zeytin yaprağında, meyvesinde ve çekirdeğinde farklı farklı fenolik bileşikler bulunmaktadır. Meyvede 13,9-30,5 (g tannik asit /kg) ve taze yaprakta 11,6-17,4 (g tannik asit /kg) toplam fenol bulunduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (10).

Gıdaların toplam antioksidan kapasitelerini belirlemek için bir seri radikal tutma testleri kullanılmaktadır. Bütün testler uygun bir substrat, bir oksidasyon başlatıcı ve uygun son nokta ölçüm sistemi esasına dayanmaktadır. Gıda örneklerinde ve biyolojik sıvılarda antioksidan aktivite tayini, serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki reaksiyon temeline dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda serbest radikallerin kalıntı konsantrasyonu spektrofotometrik veya kolorimetrik olarak tespit edilmektedir. Genellikle serbest radikaller olarak ABTS (2,2'-azinobis (3- etilbenzotiyozolin-6-sülfonik asit) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kullanılmaktadır. Çünkü bunlar antioksidan bileşiklerle doğrudan ve hızlı bir şekilde reaksiyon göstermektedir (11).

Yeşil yaprakların daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiş olup, yaprak yaşının ilerlemesi ile birlikte antioksidan kapasitesinin de azaldığı, Troloks, BHA, BHT, TBHQ gibi sentetik antioksidanlara göre oleuropeinin daha yüksek indüksiyon değerine sahip olduğu belirlenmiştir (8). Zeytin meyvesi ve yaprağında yapılan analizlerde toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşik içeriği arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (10).

Yapılan bu çalışma ile Ayvalık ve Memecik zeytin yapraklarının ve meyvelerinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitelerinin saptanması amaçlanmıştır. Doğal antioksidan kaynağı olarak da kullanılan zeytin yapraklarının antioksidan miktarı ve aktivitelerinin zeytin çeşitlerine göre farklılık gösterip göstermediği tespit edilecektir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada Bornova Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü bahçesinde yetiştirilmekte olan 20 yaşında, 6 x 6 dikim sıklığındaki, Ayvalık (Şekil 1) ve Memecik (Şekil 2) zeytin çeşitlerinin meyveleri ve yaprakları kullanılmıştır. Zeytinler her iki hasat yılında ve çeşitte 3.9 olgunluk indeksinde hasat edilmiştir. Zeytin yaprakları da aynı gün aynı ağaçtan toplanmıştır. Zeytin meyvelerinde su (%) ve yağ (%) miktarı, zeytin meyveleri ve yapraklarında da toplam fenolik madde miktarı, DPPH• ve ABTS•⁺ radikal süpürücü aktivite analizleri yapılmıştır.

Zeytinlerin olgunluk indekslerinin belirlenmesi

Olgunluk indeksinin belirlenmesi için İspanya Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Jaen İstasyonu tarafından önerilen 1 kg örnekten rastgele alınan 100 adet zeytine aşağıdaki formül kullanılarak yapılan hesaplama dayanmaktadır (12).

$$\text{Olgunluk İndeksi} = [(ax0 + bx1 + cx2 + dx3 + ex4 + fx5 + gx6 + hx7)/100]$$

Burada a, b, c,.....h aşağıdaki 8 kategorinin her birine ait zeytin adedidir

- a: Kabuk rengi koyu yeşil olan zeytinler
- b: Kabuk rengi sarı veya sarımsı olan zeytinler
- c: Kabuk rengi kırmızımsı lekeli sarımsı olan zeytinler
- d: Kabuk rengi kırmızımsı veya açık menekşe olan zeytinler
- e: Kabuk rengi siyah ve meyve eti hala yeşil olan zeytinler
- f: Kabuk rengi siyah ve meyve eti kalınlığının yarısına kadar menekşe olan zeytinler
- g: Kabuk rengi siyah ve meyve eti hemen hemen çekirdeğe kadar menekşe olan zeytinler
- h: Kabuk rengi siyah ve meyve eti koyu renk olan zeytinler

Yöntem

Su Miktarı Tayini

Zeytin örneklerinin su tayini TS.1632'de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiş olup sonuçlar % olarak verilmiştir (13).

Yağ Miktarı Tayini

Zeytin örneklerinin yağ tayini TS. 973'de belirtildiği gibi Soxhlet ekstraksiyon düzeneği ile çözgen olarak n-hekzan kullanılarak ekstraksiyonla tespit edilmiş olup sonuçlar % olarak belirtilmiştir (14).

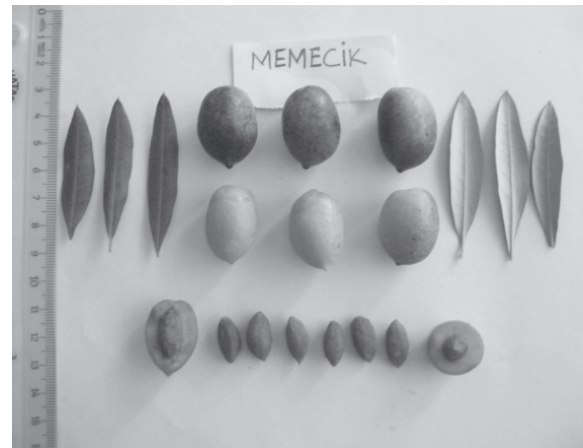
Toplam Fenolik Madde Tayini

Zeytin meyvesi örneklerinin ekstraksiyonu için Hrnçirik and Fritsche (15)'in, zeytin yapraklarının ekstraksiyonu için Bouaziz et. al (7) ve Ranalli et al. (8)'nin yöntemleri kullanılmıştır.

Zeytin yapraklarının ekstraksiyonu için 5 g örnek tartılmış, elle küçük parçalara ayrılıp, 50 ml metanol



Şekil 1. Ayvalık zeytin yaprağı ve meyvesi
Figure 1. Ayvalık olive leaves and fruits



Şekil 2 Memecik zeytin yaprağı ve meyvesi
Figure 2. Memecik olive leaves and fruits

/su 80:20 (v/v) ile karıştırıldıktan sonra 6 dk çelik bıçaklı blenderda parçalanarak ekstraksiyona tabi tutulmuş, karışım mavi band filtre kağıdından (S&S Filter Paper Circles 589³ blue ribbon, 125 mm, Germany) süzölmüştür. Aynı işlemler 3 defa tekrarlanmış, daha sonra ekstraktlar birleştirilmiştir. Elde edilen ekstrakt vakumlu döner evaporatörde (Heidolph laborota, 4010, Germany) 40 °C'de buharlaştırılmış, elde edilen ekstrakt 5 ml metanol ile çözdürülmüştür.

Abencor sisteminde kırıcıda kırılan zeytinlerden 1 g tartılmış, 5 ml metanol/su (60:40 v/v) ilavesinden sonra 2 dakika çalkalanmış ve dakikada 3500 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Mavi band filtre kağıdından (S&S Filter Paper Circles 589³ blue ribbon, 125 mm, Germany) süzöldükten sonra kalan kısımda, tekrar 5 ml metanol/su (60:40 v/v) karışımı ilave edilerek işlem tekrarlanmış ve ekstrakt saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı Hrcirik and Fritsche (15)'e göre belirlenmiştir. Zeytin meyvesi ve zeytin yaprağı ekstraktlarından 0.1 ml alınarak 50 ml'lik balon jojeye konulmuş, üzerlerine 5 ml saf su, 0.5 ml Folin-Ciocalteu (Merck KGaA, Germany) çözeltisi ilave edilmiş ve 3 dk bekledikten sonra 1 ml sodyum karbonat çözeltisi (%35, w/v) ilave edilerek, karışım saf su ile 50 ml çizgiye kadar tamamlanmıştır. Çözeltiler 2 saat karanlık ortamda bekletildikten sonra absorbans, şahit çözeltilere karşı 725 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür. Standart çözeltiler için 0-2 µg/ml arasında hazırlanan kafeik asit çözeltisi kullanılmıştır. Kafeik asit çözeltilerinin de aynı koşullarda absorbans değerleri belirlenerek örneklerin toplam fenol miktarı bu standartlardan elde edilen kalibrasyon grafikleri ($R^2=0.99$) yardımıyla kafeik asit olarak hesaplanmıştır.

DPPH• radikal süpürücü aktivite tayini

Örneklerinin DPPH• radikal süpürücü aktivitesi Jiang et al. (16) ve Carrasco-Pancorbo et al. (17)'e göre yapılmıştır. Zeytin meyvesi ve zeytin yaprağında DPPH• radikal süpürücü aktivitesi tayini için daha önce hazırlanmış olan ekstrakt kullanılmıştır. 100 µM DPPH• radikali metanol ile hazırlanmıştır. 0.1 ml örnek üzerine 1.9 ml DPPH• solüsyonu eklenmiş ve 15 dk karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Örneklerin

antioksidan kapasitesi troloks standardından elde edilen kalibrasyon grafikleri ($R^2= 0.99$) yardımıyla troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

ABTS•+ radikal süpürücü aktivite tayini

Örneklerin ABTS•+ radikal süpürücü aktivitesi, Re et al. (18) ve Pellegrini et al. (19)'a göre yapılmış, ölçümler spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Zeytin meyvesinde ABTS•+ radikal süpürücü aktivitesi tayini için Silva et al. (10) tarafından yapılan çalışmadan yararlanılmıştır, 5 g örnek tartılmış, 10 ml hekzan ilave edilerek 10 dk karıştırıldıktan sonra karışım mavi band filtre kağıdından (S&S Filter Paper Circles 589³ blue ribbon, 125 mm, Germany) süzölmüştür. Bu işlem 3 defa tekrarlanmış, ekstraktlar birleştirilmiştir. Zeytin yaprağında ABTS•+ radikal giderme aktivitesi tayini için daha önce hazırladığımız ekstrakt kullanılmıştır. 7 mM ABTS son konsantrasyonuna 2,45 mM olan potasyum persülfat ilave edildikten sonra çözelti 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. ABTS ile potasyum persülfatın oksidasyonu sonucu oluşan ABTS•+ radikal katyonu solüsyonu etanol ile 734 nm dalga boyunda absorbansı 0.70 ± 0.02 olana kadar seyreltilmiştir. 0.15 ml örnek üzerine 2 ml ABTS•+ radikal katyonu solüsyonu eklenmiş ve 15 dk karanlıkta bekletildikten sonra 734 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır. Örneklerin antioksidan kapasitesi troloks standardından elde edilen kalibrasyon grafikleri ($R^2=0.99$) yardımıyla troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analizler

Çalışmada analizler 3 tekerrürlü olarak yapılmış, elde edilen veriler SPSS for Windows v 11 (SPSS Inc., USA) paket programında General Linear Model ile değerlendirilmiştir. Önemli bulunan farklılıklar Duncan karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çizelge 1'de Ayvalık ve Memecik zeytin meyvelerinin su (%) ve yağ (%) miktarlarının yıl ve çeşitlere göre önemlilik dereceleri görülmektedir. Çizelge 2'de de belirtildiği üzere 2008/09 ve 2009/10 yıllarında sırası ile en yüksek su miktarı % 57.17 ve % 64.06 ile Memecik zeytin meyvesinde, en yüksek yağ miktarı % 21.57 ve % 18.17 ile Ayvalık zeytin meyvesinde tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak yıl x çeşit interaksyonunda meyvelerin su miktarı (%) önemli bulunmuş ($P \leq 0.001$) olup yağ

miktarı (%) önemli bulunmamıştır. Çeşitler arasında su ve yağ miktarı (%) bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($P<0.001$).

Çizelge 1. Zeytin meyvelerinin su (%) ve yağ (%) miktarlarının yıllara ve çeşitlere göre önemlilik dereceleri
Table 1. The degrees of significance for the water (%) and oil (%) content of olive cultivars according to the years and cultivars

	Su Miktarı (%) Water Content (%)	Yağ Miktarı (%) Oil Content (%)
Yıl Year	$P<0.001$	$P<0.001$
Çeşit Cultivar	$P<0.001$	$P<0.001$
Yıl x Çeşit Year x Cultivar	$P<0.001$	ö.d.

Çizelge 2. Yıl x çeşit interaksiyonunda zeytin meyvelerinin su ve yağ miktarları (%)
Table 2. The water and oil content (%) of olive fruits for the year x cultivar interaction

Yıl Year	Çeşit Cultivar	Su Miktarı (%) Water Content (%)	Yağ Miktarı (%) Oil Content (%)
2008/09	Ayvalık	$54.85 \pm 0.12^{*d}$	21.57 ± 0.11
	Memecik	57.17 ± 0.39^c	15.40 ± 0.59
2009/10	Ayvalık	57.86 ± 0.30^b	18.17 ± 0.26
	Memecik	64.06 ± 0.43^a	13.12 ± 0.05

*Standart sapma, a, b, c, d: Örnekler arası farklılığı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen örneklerin ortalamalarındaki değişimler önemlidir ($P<0.001$).
*Standard deviation, a,b,c,d: Shows differences between the samples. Changes in the average of the samples which expressed in the same column with different letters are important ($P<0.001$).

Çizelge 3'de Ayvalık ve Memecik zeytin yapraklarının toplam fenolik madde miktarının, DPPH• ve ABTS•+ radikal süpürücü aktivitelerinin yıl ve çeşitlere göre önemlilik dereceleri görülmektedir. Ayvalık zeytin yaprağının toplam fenolik madde miktarının 2008/09 ve 2009/10 hasat yıllarında sırası ile 237.73 ve 235.64 mgCAE/100 g, Memecik zeytin yaprağının 230.64 ve 233.73 mgCAE/100 g olduğu tespit edilmiş olup yıl, çeşit, yıl x çeşit interaksiyonunda önemli farklılıklar bulunmamıştır (Çizelge 4). Çeşitlere göre zeytin yapraklarının antioksidan aktiviteleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu ($P<0.001$), her iki hasat yılında da Ayvalık zeytin yaprağının DPPH• ($P<0.001$) ve ABTS•+ ($P<0.05$) radikal süpürücü aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çeşitli çalışmalarda toplam fenolik madde ve α -tokoferol miktarının antioksidan aktivite ile korelasyon içinde olduğu, toplam fenolik madde ve α -tokoferol miktarı arttıkça DPPH• (20) ve ABTS•+ (19) radikal süpürücü aktivitenin de arttığı belirtilmektedir. Çalışmamızda zeytin yapraklarının toplam fenolik

madde miktarları arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiş olup antioksidan aktivitelerindeki değişim zeytin yaprağındaki α -tokoferol gibi diğer antioksidan maddelerden kaynaklanabilir. Zeytin yaprağındaki fenolik bileşikler, özellikle de oleuropein genetik faktör, hasat zamanı, renk ve yaş gibi pek çok faktörden önemli oranda etkilenmektedir (8, 21). Saygın (21) tarafından Ayvalık, Memecik, Domat ve Gemlik zeytin yaprağı fenolik bileşik ve DPPH antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmada yeşil yaprakların daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, Eylül ve Aralık aylarında Ayvalık zeytin yaprağının DPPH antioksidan aktivite değerinin Memecik zeytin yaprağına göre daha yüksek olduğu saptanmış olup elde edilen veriler çalışma ile uyum içerisinde. Zeytin yaprağı ekstraktlarında bulunan hidroksitirozolün ABTS ve DPPH antioksidan aktivitesinin oldukça yüksek olduğu bundan dolayı zeytin yapraklarının oleuropein ve hidroksitirozol ekstraktı için yararlı birer kaynak olabileceği belirtilmektedir (5, 6).

Çizelge 3. Ayvalık ve Memecik zeytin yapraklarının toplam fenolik madde miktarlarının, DPPH• ve ABTS•+ RSA'larının yıllara ve çeşitlere göre önemlilik dereceleri
Table 3. The degrees of significance for the total phenolic content, DPPH• and ABTS•+ RSA of Ayvalık and Memecik olive leaves according to the years and cultivars

	Toplam Fenolik Madde Miktarı Total Phenolic Content	DPPH• RSA	ABTS•+ RSA
Yıl Year	ö.d.	$P<0.001$	$P<0.05$
Çeşit Cultivar	ö.d.	$P<0.001$	$P<0.001$
Yıl x Çeşit Year x Cultivar	ö.d.	$P<0.01$	$P<0.001$

Skerges et al. (22) zeytin yaprağı antioksidan aktivitesinin oldukça yüksek olduğunu, bundan dolayı yağların oksidatif stabilitesini arttırmak için kullanılabileceğini belirtmektedir. Hatta son yıllarda olgunlaşmış zeytinlere işlenmeden önce % 2-3 oranında yaprak katılarak elde edilen yağın daha lezzetli ve oksidasyona karşı daha dirençli hale geldiği (8) tespit edilmiştir. Rafine zeytinyağına zeytin yaprağı polifenolleri eklendiğinde sızma zeytinyağı ile aynı stabiliteye sahip olduğu (23), herhangi bir zeytin çeşidinin yapraklarındaki polifenollerin ekstrakte edilerek lipid ürünlerine katılmasının onların raf ömrünü uzatabileceği (24), hatta zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmiş yağın DPPH• radikal süpürücü aktivitesinin % 86 arttığı (25) yapılan çalışmalarda belirlenmiştir.

Çizelge 4. Yıl x çeşit interaksyonunda zeytin yapraklarının toplam fenolik madde miktarları (mgCAE/100 g), DPPH• (µmolTE/100 g) ve ABTS•+ (µmolTE/100 g) RSA'ları
Table 4. The total phenolic content (mgCAE/100 g), DPPH• (µmolTE/100 g) and ABTS•+ (µmolTE/100 g) RSA of olive leaves for the year x cultivar interaction

Yıl Year	Çeşit Cultivar	Toplam Fenolik Madde Miktarı (Total Phenolic Content)	DPPH• RSA (DPPH• RSA)	ABTS•+ RSA (ABTS•+ RSA)
2008/09	Ayvalık	237.73 ± 8.86*	2027.64 ± 7.67 ^a	1056.16 ± 5.41 ^A
	Memecik	230.64 ± 4.26	1512.32 ± 5.02 ^c	895.03 ± 7.98 ^C
2009/10	Ayvalık	235.64 ± 8.48	1898.81 ± 18.10 ^b	1037.86 ± 6.22 ^B
	Memecik	233.73 ± 4.26	1214.51 ± 5.02 ^d	825.38 ± 7.98 ^D

*Standart sapma, a, b, c, d: Örnekler arası farklılığı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen örneklerin ortalamalarındaki değişimler önemlidir ($P<0.01$), A, B, C, D: Örnekler arası farklılığı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen örneklerin ortalamalarındaki değişimler önemlidir ($P<0.001$).

*Standard deviation, a,b,c,d: Shows differences between the samples. Changes in the average of the samples which expressed in the same column with different letters are important ($P<0.01$), A, B, C, D: Shows differences between the samples. Changes in the average of the samples which expressed in the same column with different letters are important ($P<0.001$).

Zeytin yaprakları gıda, ilaç ve kozmetik sektöründe doğal kaynak olarak kullanılabilir, hatta son zamanlarda zeytin yaprağı ekstraktı tabletleri gıda ürünü veya gıda katkı maddesi olarak da satılmaktadır (8).

Çizelge 5'de Ayvalık ve Memecik zeytin meyvelerinin toplam fenolik madde miktarının, DPPH• ve ABTS•+ radikal süpürücü aktivitelerinin yıl ve çeşitlere göre önemlilik dereceleri görülmektedir. Çalışmamızda zeytin meyvelerinin 2008/09 hasat yılındaki toplam fenolik madde miktarının 2009/10 hasat yılına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Zeytin çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarları karşılaştırıldığında her iki yılda da Memecik zeytin meyvesinin toplam fenolik madde miktarının Ayvalık zeytine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0.001$) (Çizelge 6). Ayvalık zeytin meyvesinin toplam fenolik madde miktarının 2008/09 ve 2009/10 yıllarında sırası ile 279.39 ve 198.87 mgCAE/100 g, Memecik zeytin meyvesinin 349.72 ve 253.40 mgCAE/100 g olduğu saptanmıştır (Çizelge 6). Zeytin meyvesindeki fenolik bileşik konsantrasyonu çoğunlukla zeytin çeşidine, olgunluğa, iklime, hasat zamanına göre değişmektedir (26). Toplam fenolik madde miktarının 2009/10 hasat yılında 2008/09 hasat yılında göre Ayvalık zeytin çeşidinde % 29, Memecik zeytin çeşidinde % 27 daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Fenilalanin amonyum -liyaz aktivitesi zeytinlere uygulanan sulama suyunun artmasıyla azalmakta, fenilpropanoid oluşumu ve polifenol içeriği de azalmaktadır (27). Zeytin ağacındaki su stresi zeytin meyvesinde fenol oluşumunu tetiklemekte, toplam fenolik madde içeriğinde artışa neden olmaktadır (28).

Meteoroloji verileri incelendiğinde 2008/09 yılında ortalama 35.61 mm yağış, 2009/10 yılında ise ortalama 89.32 mm yağış meydana geldiği tespit edilmiştir (29, 30). Yıllar arasında toplam fenolik madde miktarlarındaki farklılığın yağışlardan kaynaklanabileceği söylenebilir. Günç Ergönül (31) Kasım ayında toplanan Memecik, Domat ve Uslu zeytin çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarlarının sırası ile 254.5, 194.5 ve 348 mg GAE/100g olduğunu belirtmektedir. Çalışmamızda da Memecik zeytin çeşidinin toplam fenolik madde miktarı 2009/10 yılında benzer düzeylerde tespit edilmiştir. Boskou et al. (32) Tsakistes, Amfissa, Kalamon ve Crete zeytin çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarlarını sırası ile 145, 82, 155 ve 130 mgCAE/100 g olarak belirtmekte olup, Ayvalık ve Memecik zeytin çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarları çalışmamızda daha yüksek tespit edilmiştir. Ocakoglu et al. (33) ve Ilyasoglu et al. (34) Memecik zeytin çeşidinden elde edilen yağların toplam fenolik madde miktarının, Ayvalık çeşidinden elde edilen zeytinyağına göre daha yüksek olduğunu

Çizelge 5. Ayvalık ve Memecik zeytin meyvelerinin toplam fenolik madde miktarlarının, DPPH• ve ABTS•+ RSA'larının yıl ve çeşitlere göre önemlilik dereceleri

Table 5. The degrees of significance for the total phenolic content, DPPH• and ABTS•+ RSA of Ayvalık and Memecik olive fruits according to the years and cultivars

	Toplam Fenolik Madde Miktarı Total Phenolic Content	DPPH• RSA DPPH• RSA	ABTS•+ RSA ABTS•+ RSA
Yıl Year	$P<0.01$	$P<0.001$	$P<0.001$
Çeşit Cultivar	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.01$
Yıl x Çeşit Year x Cultivar	ö.d.	$P<0.001$	ö.d.

Çizelge 6. Yıl x çeşit etkileşiminde zeytin meyvelerinin toplam fenolik madde miktarları (mgCAE/100 g), DPPH• (µmolTE/100 g) ve ABTS•+ (µmolTE/100 g) RSA'ları
 Table 6. The total phenolic content (mgCAE/100 g), DPPH• (µmolTE/100 g) and ABTS•+ (µmolTE/100 g) RSA of olive fruits for the year x cultivar interaction

Yıl Year	Çeşit Cultivar	Toplam Fenolik Madde Miktarı (Total Phenolic Content)	DPPH• RSA (DPPH• RSA)	ABTS•+ RSA (ABTS•+ RSA)
2008/09	Ayvalık	279.36 ± 9.61*	619.73 ± 3.49 ^b	875.87 ± 5.69
	Memecik	349.72 ± 21.62	1011.00 ± 3.95 ^a	880.84 ± 6.54
2009/10	Ayvalık	198.87 ± 0.75	540.64 ± 10.29 ^c	733.14 ± 4.93
	Memecik	253.40 ± 1.33	610.53 ± 7.89 ^b	747.42 ± 2.84

*Standart sapma, a, b, c, d: Örnekler arası farklılığı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen örneklerin ortalamalarındaki değişimler önemlidir ($P < 0.001$).

*Standard deviation, a,b,c,d: Shows differences between the samples. Changes in the average of the samples which expressed in the same column with different letters are important ($P < 0.001$).

belirtmektedirler. Çeşitlerin DPPH• ($P < 0.001$) ve ABTS•+ ($P < 0.01$) antioksidan aktiviteleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu, her iki hasat yılında da Memecik zeytin meyvesinin DPPH• ($P < 0.001$) ve ABTS•+ ($P \leq 0.001$) radikal süpürücü aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 6).

SONUÇ

Ege Bölgesi'nde yaygın olarak yetiştirilen Ayvalık ve Memecik zeytin yaprağı ve meyvelerinin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada Ayvalık ve Memecik zeytin yapraklarının toplam fenolik madde miktarları arasında önemli bir fark olmadığı, fakat Ayvalık zeytin yaprağının DPPH• ve ABTS•+ radikal süpürücü aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Memecik zeytin meyvelerinin toplam fenolik madde miktarının, DPPH• ve ABTS•+ radikal süpürücü aktivitelerinin Ayvalık zeytin meyvelerinden önemli oranda yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda zeytin meyveleri toplam fenolik madde miktarlarının yıllara göre değiştiği, iklimsel koşullardan (yağış) etkilenebileceği ve yağışın az olduğu yıllarda toplam fenolik madde miktarının daha yüksek olabileceği belirlenmiştir. Sonuç olarak Ayvalık zeytin yaprağının DPPH• ve ABTS•+ radikal süpürücü aktivitelerinin Memecik zeytin yaprağına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak her iki zeytin çeşidinin de yaprakları yüksek antioksidan aktivite göstermiş olup doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir. Zeytinler zeytinyağına işlenmeden önce kırıcıda belirli miktarda zeytin yaprağı ilave edilerek antioksidan içeriği ve aktivitesi yüksek yağlar elde edilebilir.

Teşekkür

Bu çalışma TAGEM tarafından desteklenmiştir (TAGEM/GY/09/03/06/148).

KAYNAKLAR

- Özdehan Ö, Öztürk Güngör F, Alpözen E, Güven G., Üren A. 2011. Farklı yörelerde yetiştirilen Gemlik zeytinlerinden elde edilen sofralık siyah zeytinlerin biyojen aminlerinin belirlenmesi. *Zeytin Bilimi*, 2, 13-20.
- Canözer Ö. 1991. Standart zeytin çeşitleri kataloğu. T.C. Tarım ve Köyleri Bakanlığı. TÜGEM. Mesleki Yayınlar Genel No: 334 Seri 16. Ankara.
- Anonim. 2011. Zeytin Hakkında Genel Bilgiler. <http://xa.yimg.com/kq/groups/16420329/1181476013/name/kitap.doc> (Erişim tarihi: 4 Temmuz 2011)
- Ferreira IC, Barros L, Soares ME, Bastos ML, Pereira JA. 2007. Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea Europea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chem*, 103,188-195.
- Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del Rio JA. 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L., leaves. *Food Chem*, 68, 457-462.
- Bouaziz M, Sayadi S. 2005. Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *Eur J Lipid Sci Technol*, 107, 497-504.
- Bouaziz M, Fki I, Jemai H, Ayadi M, Sayadi S. 2008. Effect of storage on refined and husk olive oils composition:stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chem*, 108 (1), 253-262.

8. Ranalli A, Contento S, Lucera L, Di Febo M, Marchegiani D, Di Fonzo V. 2006. Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *J Agric Food Chem*, 54, 434-440.
9. Fabbri A, Galaverna G, Ganino T. 2008. polyphenol composition of olive leaves with regard to cultivar, time of collection and shoot type. Proceeding of the Fifth International Symposium on Olive Growing. *Acta Horticulturae*, 791, 459-464.
10. Silva S, Gomes L, Leitao F, Coelho AV, Vilas Boas L. 2006. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea europea* L. fruits and leaves. *Food Sci Technol Int*, 12(5), 385-396.
11. Milardovic S, Ivekovic DS, Grabaric B. 2006. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68, 175-180.
12. UZK. 1991. Zeytinyağı kalitesinin iyileştirilmesi, Yağ Teknolojisi Deneme Enstitüsü, İtalya.
13. TSE. 1974. Yağlı tohumlar-su ve uçucu madde miktarı tayini (TS 1632) Mart 1974. Ankara.
14. TSE. 1987. Yağlı tohumlar-yağ tayini (TS 973) Mart 1987. Ankara.
15. Hrnčirik K, Fritsche S. 2004. Comparability and reliability of different techniques for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil. *Eur J Lipid Sci Technol*, 106, 540-549.
16. Jiang L, Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T. 2005. Characteristics of Shodo Island olive oils in Japan: fatty acid composition and antioxidative compounds. *Food Sci Technol Res*, 18(11), 254-260.
17. Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Bendini A, Segura-Carretero A, Del Carlo M, Gallina-Toschi T, Lercker G, Compagnone D, Fernandez-Gutierrez A. 2005. Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *J Agric Food Chem*, 53, 8918-8925.
18. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
19. Pellegrini N, Visioli F, Buratti S, Brighenti F. 2001. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence. *J Agric Food Chem*, 49(9), 2532-2538.
20. Gorinstein S, Martin-Belloso O, Katrich E, Lojek A, Cız M, Gligelmo-Miguel N, Haruenkit R, Park YS, Jung S T, Traktenberg S. 2003. Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *J Nutritional Biochemistry*, 14, 154-159.
21. Saygın B. 2009. Zeytin yaprağındaki başlıca fenolik bileşikler ve bunların antioksidan kapasiteleri üzerine araştırmaları. EÜ FBE, Gıda Müh., Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 77.
22. Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras AR, Simonic M, Knez Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem*, 89, 191-198.
23. Paiva-Martins F, Correia R, Felix S, Ferreira P, Gordon MH. 2007. Effects of enrichment of refined olive oil with phenolic compounds from olive leaves. *J Agric Food Chem*, 55, 4139-4143.
24. Farag RS, El-Baroty GS, Basuny AM. 2003. The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cvs. Picual and Kronakii), on the stability of sunflower oil. *International J Food Sci and Technol*, 38, 81-87.
25. Salta F, N, Mylona A, Chiou A, Boskou G, Andrikopoulos NK. 2007. Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Sci Technol Int*, 13(6), 413-42.
26. Ninfali P, Aluigi G, Bacchiocca M, Magnani M. 2001. Antioxidant capacity of extra-virgin olive oils. *J Am Oil Chem Soc*, 78, 243-247.
27. Tovar MJ, Moltiva MJ, Luna M, Girona J, Paz-Romero M. 2001. Analytical characteristics of virgin olive oil from young trees (Arbequina cultivar) growing under linear irrigation strategies. *J Am Oil Chem Soc*, 78, 843-849.
28. Mailer R, Ayton J. 2009. Effect of irrigation and water stress on olive oil quality and yield based on a four year study. *Acta Horticulture*, 888, 63-72.
29. Anonim. 2009. www.mgm.gov.tr, Yıllık yağış miktarları. (Erişim tarihi: 16 Haziran 2010)
30. Anonim. 2010. www.mgm.gov.tr, Yıllık yağış miktarları. (Erişim tarihi: 24 Mayıs 2011)
31. Günç Ergönül P. 2006. Zeytin meyvesinin olgunlaşması sırasında, bileşimindeki organik asit miktarındaki değişimler ve bu değişimlerin yağ birikimiyle olan ilişkisinin araştırılması, CBÜ FBE Yüksek Lisans Tezi, Manisa, 98.
32. Boskou G, Salta FN, Chrysostomou S, Mylona A, Chiou A, Andrikopoulos NK. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Grek market. *Food Chem*, 94, 558-564.
33. Ocakoglu D, Tokatli F, Ozen B, Korel F. 2009. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavanoids in Turkish moonovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chem*, 113, 401-410.
34. Ilyasoglu H, Ozcelik B, Van Hoed V, Verhe R. 2010. Characterization of Aegean olive oils by their minor compounds. *J Am Oil Chem Soc*, 87, 627-636.